

MEDICINE FOR ENHANCING HYALURONIC ACID-PRODUCING ABILITY

Publication number: JP11060496 (A)

Publication date: 1999-03-02

Inventor(s): SOUMA TSUZURU; SATO ETSUHISA +

Applicant(s): INST ADVANCED SKIN RES INC +

Classification:

- international: A61K36/60; A61K8/00; A61K8/96; A61K8/97; A61K9/06; A61P17/00; A61Q19/00; A61K36/185; A61K8/00; A61K8/96; A61K9/06; A61P17/00; A61Q19/00; (IPC1-7): A61K35/78; A61K7/00; A61K7/48; A61K9/06

- European:

Application number: JP19970230464 19970813

Priority number(s): JP19970230464 19970813

Abstract of JP 11060496 (A)

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a medicine for enhancing an ability of producing hyaluronic acid of the keratinocyte from the human skin, by including a plant extract from a plant belonging to the family Moraceae in an amount enough to enhance an ability of producing hyaluronic acid in the tissue or cell of mammals. **SOLUTION:** This medicine is obtained by including a plant extract from one or more plants selected from the group comprising plants belonging to the genera Morus, Artocarpus, Broussonetia, and Ficus, in the family Moraceae (e.g. Morus alba and Ficus carica) preferably at 0.005-5 wt.% based on dry weight of the medicine. The plant extract is obtained by extracting a raw, air dried, or lyophilized plant with water, a water-containing hydrophilic organic solvent, or a water-immiscible organic solvent. It, is preferable that the medicine is intaken in a dose of 0.1-50 mg/kg.day.

Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-60496

(43) 公開日 平成11年(1999) 3月2日

(51) Int.Cl. ⁹	識別記号	F I
A 6 1 K 35/78	A D A	A 6 1 K 35/78
7/00		7/00
		K
		W
7/48		7/48
9/06		9/06
		C
審査請求 未請求 請求項の数 5 F D (全 5 頁)		

(21) 出願番号 特願平9-230464

(22) 出願日 平成9年(1997) 8月13日

(71) 出願人 591062065
株式会社アドバンストスキンリサーチ研究所
神奈川県横浜市金沢区福浦2丁目12番地1
(72) 発明者 相馬 つづる
神奈川県横浜市金沢区福浦2丁目12番地1
号 株式会社アドバンストスキンリサーチ
研究所内
(72) 発明者 佐藤 悦久
神奈川県横浜市金沢区福浦2丁目12番地1
号 株式会社アドバンストスキンリサーチ
研究所内
(74) 代理人 弁理士 小田島 平吉 (外1名)

(54) 【発明の名称】 ヒアルロン酸産生能増強剤

(57) 【要約】

【課題】 安全に使用でき、しかも哺乳類の組織または細胞におけるヒアルロン酸産生能を増強できる組成物の提供。

【解決手段】 くわ科 (Moraceae) に属する植物の植物抽出物を有効成分として含んでなる、殊に表皮細胞または該細胞からなる組織におけるヒアルロン酸産生能増強剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 哺乳類の組織または細胞におけるヒアルロン酸産生能増強剤であって、くわ科(Moraceae)に属する少なくとも1種の植物に由来する植物抽出物を前記ヒアルロン酸産生能を増強するのに十分量含むことを特徴とするヒアルロン酸産生能増強剤。

【請求項2】 くわ科(Moraceae)に属する植物が、クワ属(Morus)、パンノキ属(Atrocarpus)、コウゾ属(Broussonetia)、イチジク属(Ficus)に属する植物からなる群より選ばれる少なくとも1種である請求項1記載のヒアルロン酸産生能増強剤。

【請求項3】 クワ属(Morus)に属する植物が、マグワ[真桑、白桑](Morus alba L.)の葉もしくは根皮、ヤマグワ[山桑、桑椹](Morus bombycis Koidzumii)の葉、枝、果実もしくは根皮、モウコグワ[蒙桑、岩桑、巖桑](Morus mongolica Schneid.)の葉、果実、樹皮もしくは根皮、またはロウソ[魯桑](Morus multicaulis)の葉、樹皮もしくは根皮であり、パンノキ属(Atrocarpus)に属する植物が、パンノキ(Atrocarpus communis Forst.)の花もしくは果実であり、コウゾ属(Broussonetia)に属する植物が、コウゾ[小構樹](Broussonetia kazinoki Sieb)の葉、果実もしくは全根、またはカジノキ[梶木、楮](Broussonetia papyrifera L.)の樹皮、葉もしくは果実であり、イチジク属(Ficus)に属する植物が、イチジク[無花果](Ficus carica L.)の果実、葉もしくは茎、オオイタビ[薛荔](Ficus pumila)の葉、茎もしくは枝である請求項2記載のヒアルロン酸産生能増強剤。

【請求項4】 植物抽出物が、未乾燥あるいは風乾、温乾もしくは凍結乾燥等された前記植物体から水、含水親水性有機溶媒または水不混和性有機溶媒で抽出されたものである請求項1～3のいずれかに記載のヒアルロン酸産生能増強剤。

【請求項5】 哺乳類の組織または細胞がヒトの表皮細胞または該細胞を含む組織である請求項1～4のいずれかに記載のヒアルロン酸産生能増強剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、くわ科(Moraceae)に属する植物の植物抽出物を有効成分として含有する哺乳類、特にヒトの組織または細胞におけるヒアルロン酸産生能増強剤に関する。

【0002】

【従来の技術】哺乳類の一定の細胞培養試験により、ヒアルロン酸の合成もしくは産生能を促進する作用を有するものとして、一般に下等植物に分類される海藻植物アナオサの抽出物(特開平6-9422号)、その他の海藻植物、例えば、アオサ科、オゴノリ科、テングサ科に属する植物の抽出物(特開平7-101871号)が知られている。そして、これらの抽出物は、ヒアルロン

酸合成促進作用に起因して、皮膚細胞の賦活化をもたらすことが示唆されている。

【0003】このようなヒアルロン酸合成促進能と皮膚細胞の賦活性に何等かの関連性が存在することは、次のような実状または知見から領けるかも知れない。すなわち、ヒアルロン酸は皮膚、関節液、硝子体、靱帯等、生体に広く分布し、例えば皮膚においては細胞の接着、細胞の保護、皮膚組織の形成、組織水分の保持、柔軟性の維持等、重要な役割を担っている。また、変形性膝関節症やリュウマチではヒアルロン酸が低下することよりヒアルロン酸そのものを有効成分とする注射剤や白内障手術時の眼房保持補助剤として使われている。一方、皮膚老化現象の一つに「潤いの低下」や「張りの低下」とそれらに伴う「しわ」や「たるみ」などの発生があげられる。その成因は未だ完全に解明されていないが、Biochimica Biophysica Acta, 279:265(1972)や、粧技誌, 15:77(1981)(英訳名はJapanese Journal of Society for cosmetic chemists)、Cell Structure and Function, 9:357(1984)、Carbohydrate Research, 159:127(1987)などで報告されているように、皮膚細胞によるヒアルロン酸産生が加齢に伴い減少することが一因となり、皮膚の含水量の低下が皮膚機能に影響していると考えられている。

【0004】上記のような実状または知見を考慮すれば、かりに皮膚への適用を主目的とする場合であっても、安全性が高く、皮膚細胞に直接働きかけて、皮膚組織でのヒアルロン酸の産生をより強く促進させる物質の提供が望まれる。したがって、本発明の目的は、従来の植物抽出物に比べて、ヒアルロン酸産生能の増強作用が優れており、しかも、皮膚以外の細胞または組織における前記増強作用を示す物質を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、例えば、皮膚由来の各種培養細胞に着目し、培養条件とヒアルロン酸を含めた各種グリコサミノグリカンの経時的な質的、量的変動に対する多種多様な化合物もしくは物質または組成物の作用について検討を重ねてきた。

【0006】その結果、本発明者らは、従来、美白化粧品の有効成分として(特公昭52-44375号公報)、他の成分と組み合わせて用いるメラニン生成抑制外用薬剤の有効成分として(特開平1-83009号公報)、抗炎症剤、循環器系薬剤等のための5-リボシゲナーゼ阻害作用やヒアルロニダーゼ阻害作用物質として(特開平3-68515号公報)、尿素と組み合わせて用いる角質層の水分保持や抗菌等の作用が持続する化粧料の有効成分として(特開平6-24954号公報)、ならびに各種成分と組み合わせて美白化粧料の有効成分として(例えば、特開平6-107532号、同6-199646号、同8-92055号公報)、使用

されてきた桑白皮をはじめとするくわ科 (Moraceae) に属する植物の植物抽出物が、意外にも、哺乳類の組織または細胞におけるヒアルロン酸産生能を増強することを見出した。

【0007】この増強作用は、メラニン生成抑制作用やチロシナーゼ活性阻害作用とは異なり、積極的に生体内で多様な作用を示すヒアルロン酸の産生を促進することに特徴がある。そしてかような作用を発揮させることができれば、例えば、皮膚老化現象の遅延もしくは改善をもたらすことが可能である。

【0008】したがって本発明によれば、くわ科 (Moraceae) に属するいずれか、殊に、クワ属 (*Morus*)、パンノキ属 (*Atrocarpus*)、コウゾ属 (*Broussonetia*)、イチジク属 (*Ficus*) に属する植物からなる群より選ばれる少なくとも1種の植物抽出物を哺乳類の組織または細胞におけるヒアルロン酸産生能を増強するのに十分量含んでなる前記組織または細胞におけるヒアルロン酸産生能増強剤が提供される。

【0009】本発明で使用する「くわ科」の特定の属に属する植物の具体的なものとしては、それぞれ次のような植物および植物体を挙げることができる。

【0010】クワ属 (*Morus*) に属する植物としては、マグワ〔真桑、白桑〕(*Morus alba* L.) の葉および根皮、ヤマグワ〔山桑、桑椹〕(*Morus bombycis* Koidzumi) の葉、枝、果実および根皮、モウコグワ〔蒙桑、岩桑、巖桑〕(*Morus mongolica* Schneid.) の葉、果実、樹皮および根皮、コウゾ〔魯桑〕(*Morus multicaulis*) の葉、樹皮および根皮などが挙げられる。

【0011】パンノキ属 (*Atrocarpus*) に属する植物としては、パンノキ (*Atrocarpus communis* Forst.) の花および果実などが挙げられる。コウゾ属 (*Broussonetia*) に属する植物としては、コウゾ〔小構樹〕(*Broussonetia kazinoki* Sieb) の葉、果実および全根、カジノキ〔梶木、楮〕(*Broussonetia papyrifera* L.) の樹皮、葉および果実などが挙げられる。イチジク属 (*Ficus*) に属する植物としては、イチジク〔無花果〕(*Ficus carica* L.) の果実、葉および茎、オオイタビ〔薛荔〕(*Ficus pumila*) の葉、茎および枝などが挙げられる。

【0012】本発明に従う抽出物を調製するに際して、前記植物体は未乾燥の状態でもよいが風乾、温乾あるいは凍結乾燥等の方法で乾燥してから抽出に供するのが抽出効率の点で好ましい。かかる抽出方法に制限はなく、当該技術分野で常用されているいずれかの抽出方法が採用され、また抽出媒体としては水、含水親水性有機溶媒、有機溶媒等を使用することができる。

【0013】本発明に従うヒアルロン酸産生能増強剤における植物抽出物の配合量は、哺乳類の組織または細胞、殊にヒトの表皮細胞におけるヒアルロン酸の産生能を増強するのに十分な量とされる。かような量は、適用されるヒトの年齢、個体差等により最適量が変動する

ので限定できるものでないが、一般的に、皮膚に適用する場合、製剤全量中に乾燥物として0.0001~20重量%、好ましくは0.005~5重量%である。0.0001重量%以下であると、本発明で言う作用効果が十分に発揮されず、20重量%以上を超えると製剤上好ましくない。抽出液を配合する場合は、0.004~100容積%、好ましくは0.2~100%である。0.004容積%以下であると、本発明で言う効果が十分に発揮されない。

【0014】また、本発明の前記ヒアルロン酸産生能増強剤には、有効成分として含められる前記抽出物の他に、有効成分の効能に悪影響を及ぼさない範囲で、多種多様の担体、希釈剤もしくは助剤、または他の活性化合物を、それぞれ単独または組み合わせて含めることができる。このような添加剤としては、剤形を外用例とする場合を例にすれば、通常外用剤に用いられる成分、例えば界面活性剤、油分、アルコール類、保湿剤、ビタミン類、増粘剤、防腐剤、酸化防止剤、キレート剤、pH調整剤、香料、色素、紫外線吸収剤、紫外線散乱剤、アミノ酸類、皮膚機能亢進剤、ホルモン、皮膚活性化剤、水等を挙げることができる。

【0015】具体的には、非イオン性界面活性剤、アニオン性界面活性剤、カチオン性界面活性剤のような界面活性剤、固体状あるいは液状のパラフィン、クリスタルオイル、セレシン、オゾケライト、モンタンロウ等の炭化水素類、シリコン油類、オリーブ油、地口油、カルナバロウ、ラノリンのような植物性もしくは動物性油脂やロウ、更にステアリン酸、パルミチン酸、オレイン酸、グリセリンモノステアリン酸エステル、グリセリンモノオレイン酸エステル、イソプロピルミリスチン酸エステル、イソプロピルステアリン酸エステルのような脂肪酸またはそのエステル類、分岐脂肪酸の一種アルコールまたは多価アルコールのエステル類、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、セチルアルコール、パルミチルアルコール等のアルコール類、グリコール、グリセリン、ソルビトール等の多価アルコール類またはそのエステル類などが挙げられる。

【0016】さらに、アルギニン、セリン、メチオニン等のアミノ酸類、ビタミンA酸、ビタミンB6、アスコルビン酸およびその誘導体、ビタミンD誘導体、ビタミンEおよびその誘導体、ビオチン等のビタミン類、多糖類、コレステロール類、パントテン酸およびその誘導体、グリチルリチン酸およびその誘導体、グリチルレチン酸およびその誘導体、ニコチン酸ベンジルなどのニコチン酸エステル類、エチルパラベン、ブチルパラベン等の防腐剤、ブチルヒドロキシトルエン、プロピルガレート等の酸化防止剤、アルブチン、コウジ酸等の皮膚美白剤、アラセンタエキス、セファランチン等の皮膚機能増強剤、エストラジオール等の女性ホルモン剤、レチノール、アルファヒドロキシ酸およびそのアルキルエステ

ルなども本発明の従うヒアルロン酸産生能増強剤に添加することができる。

【0017】本発明のヒアルロン酸産生能増強剤は、優れたヒアルロン酸産生能増強作用を有し、かつ生体を使用する上で安全性が高いことから、前述のような医薬品または医薬部外品もしくは化粧品等の各種用途に使用することができる。剤形を皮膚外用剤とする場合の性状は、液状、乳液状、クリーム状、軟膏、スティック状、パック、パスタ剤、散剤など外皮に適用できる性状のものであればいずれでも良い。本発明の皮膚外用剤は皮膚に直接に塗布、貼付または散布する経皮投与による投与方法をとる。

【0018】また、本発明のヒアルロン酸産生能増強剤の用量は、年齢、個人差、病状等により変化するので明確には確定できないが、一般にヒトに用いる場合の用量は、体重1kgおよび1日当たり0.01～100mg、好ましくは0.1～50mgが接触または吸収されるように1日1回または2～4回に分けて適用することができる。

【0019】

【実施例】次に実施例をあげて本発明物質の製法およびヒアルロン酸産生能増強作用をさらに具体的に説明する。本発明はこれにより限定されるものではない。

表 1.

製造例	植物体	抽出溶媒	収量(g)
2	ヤマグワ	50%エタノール水溶液	28.3
3	モウコグワ	50%エタノール水溶液	29.2
4	ロウソ	50%エタノール水溶液	21.4
5	パンノキ	50%エタノール水溶液	14.6
6	コウゾ	50%エタノール水溶液	13.8
7	カジノキ	50%エタノール水溶液	26.0
8	イチジク	30%エタノール水溶液	17.2
9	オオイタビ	50%エタノール水溶液	23.0

(ヒアルロン酸産生促進試験) 正常ヒト皮膚由来のケラチノサイト(NHEK)を無血清培養液で培養した。この細胞はヒト表皮のケラチノサイトの生理的作用を試験するのに多用されており、ヒアルロン酸産生能を試験するのに適するものである。NHEK細胞の 2.5×10^8 個を直径15.6mmのウェル(24穴プレート)に蒔き、無血清培養液を用い、37℃で3日間培養した。3日間培養後培養液を、製造例に示す抽出物を0～2%含有する無血清培養液と交換し、培養を続けた。7日間培養後、培養上清を採取し、ヒアルロン酸濃度を測定した。試験はトリプレイトに行い、平均値を求めた。

【0023】培養液中のヒアルロン酸濃度は、ヒアルロン酸結合蛋白質(HABP)を用いたサンドイッチバイ

表 2.

被験物質 培養液中の濃度(w/v) ヒアルロン酸産生促進能

【0020】(製造方法) 本発明で用いる植物抽出物の一般的な製造方法としては、植物体を、例えば0℃～100℃の、水、あるいはメタノール、エタノール、イソプロパノール等の低級アルコールを含む含水アルコール、あるいはプロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール等の多価アルコールを含む含水アルコール等、あるいはアセトン、メチルエチルケトン、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、ヘキサン等の炭化水素、クロロホルム等の塩化炭素等で抽出して得られる。含水アルコールの水とアルコールの比率は、アルコール：水が容積比で1：99～100：0であることが好ましく、より好ましくは10：90～100：0である。

【0021】製造例1

マグワの根皮乾燥物100gに1lの50%エタノール水溶液を加え、80℃のウォーターバスで4時間、環流抽出し、抽出液を濃縮および乾燥することにより、マグワ抽出物17.8gを得た。また、同様にして表1に示す抽出溶媒を使用し、各植物から表1に示すような収率で、抽出物を汁液、濃厚液または乾燥粉末として得た。

【0022】

ンディングアッセイ法(臨床病理、36：536、1991；炎症、16：97、1996)により測定した。被験物質を含まない対照例の培養液中のヒアルロン酸濃度も同時に測定し、被験物質の添加により誘導された試験例のヒアルロン酸濃度を、対照例のヒアルロン酸濃度で除してヒアルロン酸産生能とした。

【0024】試験例1

製造例1のマグワ抽出物を0～0.1%含む無血清培養液のヒアルロン酸濃度を測定し、その平均値をマグワ抽出物を含まない(すなわち、0%)無血清培養液(対照例)のヒアルロン酸濃度の平均値で除して、ヒアルロン酸産生促進能を求めた。結果を下記の表2に示す。

【0025】

	0% (対照例)	1.0
	0.005% (50 μ g/ml)	1.2
マグワ抽出物	0.01% (100 μ g/ml)	1.6
	0.025% (250 μ g/ml)	2.7
	0.05% (500 μ g/ml)	4.2
	0.1% (1mg/ml)	3.5

以上のように、本発明の製剤に含まれる植物抽出物は、ヒトのケラチノサイトにおいて優れたヒアルロン酸産生促進作用またはヒアルロン酸産生能増強作用を示す。

に表皮細胞また該細胞を含む組織において、増強させるために皮膚外用剤として用いる場合の典型的な製剤例を挙げる。

【0027】

【0026】次に、本発明のヒアルロン酸産生能を、殊

製剤例1 (軟膏剤)

(1)	ヤマグワ抽出物 (製造例2で得られたもの)	1.0%
(2)	プラスチックベース 50W	99.0
	計	100.0%

流動パラフィン (95%) とポリエチレン (5%) より成る (2) に (1) を練合し、減圧脱気して軟膏を得

た。

【0028】

製剤例2 (クリーム剤)

A. セタノール	4.0%
ワセリン	7.0
イソプロピルミリステート	8.0
スクワラン	12.0
ジメチルポリシロキサン	3.0
グリセリンモノステアレート	2.2
POE (20) ソルビタンモノステアレート	2.8
グリチルレチン酸ステアレート	0.02
エチルパラベン	0.1
ブチルパラベン	0.1
B. 水相	
マグワ抽出物 (製造例1で得られたもの)	0.1
1,3-ブチレングリコール	7.0
フェノキシエタノール	0.2
アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム塩	4.0
精製水	残余
	計 100.0%

マグワ抽出物を1,3-ブチレングリコールに加熱溶解し、フェノキシエタノールとアスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム塩を加えて70℃に保ったB相に、70℃に加熱溶解したA相を攪拌しながら加え、ホモミキサー処理を行い、乳化粒子を細かくした後に、攪拌しながら急冷し、クリームを得た。

【0029】

【発明の効果】本発明によれば、ヒト皮膚由来のケラチノサイトのヒアルロン酸産生能が増強され、ひいては、かかる産生能が低下した細胞または組織における該産生能を回復または増強する製剤が提供される。